OIPE			
MAR 3 1 2004 - R	TRANSMITTAL LETTER (General - Patent Pending)		Docket No. 2793
In Recopilication Of: S	SADAIE, T.		
Serial No. 10/722,318	Filing Date 11/25/2003	Examiner	Group Art Unit
Title: FUNGI AND TH	EIR SYMBIOTIC BACTERIAL	GROUP	<u> </u>
		-	
	TO THE COMMISSI	ONER FOR PATENTS:	
Transmitted herewith is:			
CERTIFIED COPY O	F THE PRIORITY DOCUMENT	2003-044321	
in the above identified a	application.		
No additional fee		-h - d	
☐ A check in the an☐ The Director is he	nount of is atta ereby authorized to charge and ci		
as described belo ☐ Charge tl			
Credit an	y overpayment.		
☐ Charge a	ny additional fee required.		
	<b>-</b> //		
		Dated: MARCH 29, 2004	
2 3	'ignature		

I certify that this document and fee is being deposited on MARCH 29, 2004 with the U.S. Postal Service as first class mail under 37 C.F.R. 1.8 and is addressed to the Commissioner for Patents, P.O. Box 1450, Alexandria, VA 22313-1450.

Signature of Person Mailing Correspondence

MICHAEL J. STRIKER

Typed or Printed Name of Person Mailing Correspondence

# 日本国特許庁 JAPAN PATENT OFFICE

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日 Date of Application:

2003年 2月21日

出 願 番 号 Application Number:

特願2003-044321

[ST. 10/C]:

[ J P 2 0 0 3 - 0 4 4 3 2 1 ]

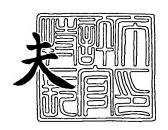
出 願 人
Applicant(s):

ホーマークリーン株式会社

定家 多美子 若尾 喜一

2004年 1月 9日

特許庁長官 Commissioner, Japan Patent Office 今井康



【書類名】 特許願

【整理番号】 HC0316

【あて先】 特許庁長官殿

【国際特許分類】 C12N 1/20

【発明者】

【住所又は居所】 静岡県三島市大場1086-152

【氏名】 定家 多美子

【特許出願人】

【識別番号】 501232643

【住所又は居所】 東京都新宿区百人町2-11-24 染矢グロービル

【氏名又は名称】 ホーマークリーン株式会社

【代表者】 山岡 一夫

【特許出願人】

【識別番号】 500503481

【住所又は居所】 静岡県三島市大場1086-152

【氏名又は名称】 定家 多美子

【特許出願人】

【識別番号】 501232665

【住所又は居所】 山梨県南巨摩郡身延町梅平1343-1

【氏名又は名称】 若尾 喜一

【代理人】

【識別番号】 100078259

【住所又は居所】 東京都港区西新橋1丁目22番1号 須田ビル別館 西

野特許事務所

【弁理士】

【氏名又は名称】 西野 茂美

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 011888

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 要約書 1

【プルーフの要否】 要

【書類名】

明細書

【発明の名称】

有機物処理真菌共生菌群及びその用途

【特許請求の範囲】

#### 【請求項1】

酸素量を実質的に1ppm以下とし、電子受容体となる無機塩類と、炭素源の存在下で、共生増殖する菌の集合体である有機物処理真菌共生菌群。

#### 【請求項2】

以下の菌を優占菌として含んでいることを特徴とする請求項1に記載の有機物 処理真菌共生菌群。

ムコール インディカス (Mucor indicus ATCC90364),

ミクソコッカス類 (Myxococcus sp. ATCC49305),

フラボバクテリウム ジョンソニアエ (Flavobacterium johnsoniae ATCC23107),

シュウドモナス アルカリゲネス (Pseudomonas alcaligenes ATCC14909), クレブシエラ オルニチノリティカ (Klebsiella ornitinolytica ATCC31898),

バシラス リケニフォルミス (Bacillus licheniformis ATCC14580), ボセア チオオキシダンス (Bosea thiooxidans ATCC700366).

メチロシーナス トリコスポリウム (Methylosinus tricosporium ATCC35070)

### 【請求項3】

前記無機塩類は、少なくとも硝酸塩を含んでいることを特徴とする請求項1又 は請求項2に記載の有機物処理真菌共生菌群。

### 【請求項4】

前記炭素源はセルロース質を含む有機物であることを特徴とする請求項1から 請求項3の何れか1項に記載の有機物処理真菌共生菌群。

#### 【請求項5】

前記請求項1から請求項4の何れか1項に記載の有機物処理真菌共生菌群を含む有機性廃棄物処理剤。

## 【請求項6】

前記請求項1から請求項4の何れか1項に記載の有機物処理真菌共生菌群を、有機性廃棄物に混合して該有機性廃棄物を分解・浄化処理することを特徴とする有機性廃棄物の処理方法。

### 【請求項7】

前記請求項1から請求項4の何れか1項に記載の有機物処理真菌共生菌群を含む無臭化剤。

### 【請求項8】

前記請求項1から請求項4の何れか1項に記載の有機物処理真菌共生菌群を、 有機物を含む臭気源に加えることを特徴とする無臭化処理方法。

# 【発明の詳細な説明】

[0001]

## 【発明の属する技術分野】

本発明は、有機性廃棄物を分解・浄化処理及び/または無臭化処理等をするための真菌共生菌群に関するものであり、さらにはその真菌共生菌群の有効な用途に関するものである。

#### [0002]

#### 【従来の技術】

環境に重大な影響を及ぼす汚染物質や廃棄物質の処理方法については、従来から数多くの研究開発がなされている。なかでも、微生物による生物学的処理方法は、化学物質処理でしばしば指摘されている二次環境汚染等を引き起こす心配もなく、微生物共存の生態系のなかで、自然に汚染物質や廃棄物質が処理されるため、近年になって、にわかに注目を集めている。

#### [0003]

微生物による有機性廃棄物の処理方法としては、古くから汚水浄化処理分野で広く利用されてきたが、汚水浄化過程で生育する微生物の生態系については、いまだ十分な解明がなされておらず、汚水処理で問題となる悪臭の発生や余剰汚泥処理等の問題は、脱臭装置を設けたり、余剰汚泥を消化槽で再処理する等のシステム面から解決しているのが現状である。

#### [0004]

有機性廃棄物に係わる微生物や、脱臭に係わる微生物については、いままでにもいくつかの文献で紹介されている。たとえば、好気性処理で発現する好気性細菌として、ズーグロエア、アクロモバクター、アルカリジェネス、バシラス、シュードモナス、等が知られており、嫌気性処理で発現する嫌気性菌として、硫酸還元菌、メタン生成菌、等が知られている。また、悪臭物質分解微生物として、アンモニアを分解する硝化細菌、硫黄化合物を分解する硫黄細菌、C1化合物資化菌(ハイフォマイクロビウム属細菌、チオバチルス属細菌)等が知られている(非特許文献1)。

[0005]

## 【非特許文献1】

大森俊雄編著, "環境微生物学"昭晃堂, 2001年2月10日発行, 4微生物を用いた廃水処理, 7微生物脱臭の章

### [0006]

また、有機性廃棄物処理や脱臭処理に利用する微生物特許についても、新規微生物を含めていくつか提案されている。たとえば、下記特許文献1には、アミラーゼ、プロテアーゼ、リパーゼを産生するバチルス属の微生物に、炭酸水素ナトリウム、ブドウ糖、ミョーバンを配合し、トイレや台所のヌメリや悪臭を除去する微生物配合剤が提案されている。また、下記特許文献2には、土壌から廃水処理菌株(放射線菌4種、バシラス属1種)を分離してこれを同定し、この菌株を使って畜産廃水を処理し、非処理水を脱臭剤及び液肥として利用することが提案されている。

[0007]

【特許文献1】

特開2001-224365号公報

【特許文献2】

特表2002-528113号公報

[0008]

【発明が解決しようとする課題】

しかしながら、非特許文献1に述べられている通常の好気性処理は、余剰汚泥が多量に発生するという問題の他に、上述した脱臭微生物によって、アンモニア、硫黄化合物等の臭い物質を完全に酸化し、無臭の無機物質まで分解するためには酸素コントロールが難しく、現状では臭気の発生が避けられない。また、通常の嫌気性処理は、嫌気状態にして有機物を発酵分解するものであり、臭い物質が多量に発生するという問題がある。

# [0009]

一方、特許文献1及び特許文献2で使用する菌のほとんどは、酸素を電子受容体とするもので、酸素を多量に供給する必要があり、上述の好気性処理と同じ問題がある。また、特許文献1は、有機物分解の一部に菌を補足し、分解を早めるというものあり、それぞれ分解目的の有機物毎に菌を変えて使用している。このため、有機物分解終了後は、菌を加え続けなければならないという問題がある。さらに特許文献2は、畜産廃水処理にのみ有用な微生物株菌であり、その用途も畜舎の脱臭効果と、液肥効果が述べられているだけであり、他の有機性廃棄物処理効果や脱臭効果については述べられていない。

### $\{0010\}$

本発明は、上述したような現状を踏まえて提案されたものであり、従来とは全く異種の微生物群(真菌共生菌群)により、有機性廃棄物の分解・浄化処理と、 臭気源の無臭化を図ることを目的としている。

#### [0011]

#### 【課題を解決するための手段】

本発明者は、微生物学的見地から廃水浄化処理方法を長年研究した結果、ある特定の条件で廃水浄化処理したときに出現する真菌共生菌群が、広範囲の有機性廃棄物の分解・浄化処理に極めて有効であり、しかも無臭化にも実効性のあることを知得し、本発明に至ったものである。即ち、本発明の有機物処理真菌共生菌群は、酸素量を実質的に1ppm以下とし、無機塩類と、炭素源の存在下で、共生増殖する真菌に共生する菌群の集合体である。

#### [0012]

本発明の真菌共生菌群は、工場廃水、生活廃水、糞尿廃水、生ゴミ、生糞尿、

植物性廃棄物等の有機性廃棄物の分解・浄化処理及び無臭化処理に有効である。また本発明で、酸素量を実質的に1ppm以下(1mg/L以下)としたのは、酸素量がそれ以上になると、好気性微生物が出現、活性化し、通常の活性汚泥処理法となるためである。「実質的に」としたのは、1ppm以上であっても、本発明の真菌共生菌群が生存増殖可能な微差範囲を含める趣旨である。酸素量は、廃水等の液体中では曝気量により溶存酸素量を調整し、畜舎等での無臭化処理においては、空気中の空気量を調整する(たとえばビニールシート等で覆う)ことにより実現できる。

#### [0013]

このような酸素量の環境下では、真菌共生菌群は、まずエネルギーとして消費しやすい酸素を電子受容体として呼吸し、有機物を栄養源として増殖する。酸素が消費尽くされると(即ち、酸素量が0の状態)、他の化学成分である無機塩類を電子受容体として呼吸する。無機塩類は、少なくとも硝酸塩を含んでおり、その他にも、硫酸塩(チオ硫酸塩を含む)、鉄分、マンガン分、フマル酸塩等が含まれている。これらの無機塩類は酸化還元ポテンシャルに従って、まず硝酸塩が消費され、その後に他の成分が電子受容体として消費される(以下、上記無機塩類を含む液体を電子受容体調整液という)。

#### [0014]

これらの成分の含有量は、実施例によれば、硝酸塩6ppm、硫酸塩12ppm、チオ硫酸塩1ppmであった。この含有量は、真菌共生菌群の生育環境により違いがあり、特に限定されるものではない。また、最初に電子受容体となる前記成分を調整して真菌共生菌群に加えておけば、あとはこれらの成分は、真菌共生菌群が自ら産生するものであり、真菌共生菌群が安定すれば、あらたに菌群や電子受容体調整液を加える必要はない。なお、前記炭素源は真菌共生菌群の栄養源となるものであり、セルロース、ヘミセルロース等のセルロース質を含む有機物である。

### [0015]

上記環境下で出現する菌をDNAシークエンスによる解析で同定したところ、 以下の真菌を中心とする菌群が優占菌として共生増殖することがわかった。

- 1. ムコール インディカス (Mucor indicus ATCC90364),
- 2. ミクソコッカス類 (Myxococcus sp. ATCC49305),
- 3. フラボバクテリウム ジョンソニアエ (Flavobacterium johnsoniae ATCC 23107),
- 4. シュウドモナス アルカリゲネス (Pseudomonas alcaligenes ATCC14909).
- 5. クレブシエラ オルニチノリティカ (Klebsiella ornitinolytica ATCC31 898) .
  - 6. バシラス リケニフォルミス (Bacillus licheniformis ATCC14580),
  - 7. ボセア チオオキシダンス (Bosea thiooxidans ATCC700366),
- 8. メチロシーナス トリコスポリウム (Methylosinus tricosporium ATCC35 070)

なお、ATCCはアメリカの菌株保存登録機関であるAmerican Type Culture Collectionの略字であり、これらの菌株は日本でも入手可能である。

# [0016]

上記真菌共生菌群は、たとえば有機物を含む廃水を曝気槽に入れ、溶存酸素量 1 p p m以下で曝気処理した上澄水から得られ、さらに好ましくは、曝気処理水に含まれる汚泥を沈澱処理し、この沈殿汚泥を 1 p p m以下の溶存酸素で再曝気処理したときの上澄水から得られる。各菌類は、いずれも公知のものであるが、これらの共生代謝関係により、有機物を無臭化状態で分解処理することができる

# [0017]

上記真菌共生菌群の相互の共生関係については、まだ全貌が解明されていないが、発酵微生物が産生した半分解有機物を、さらに分解することにより、無臭化状態で有機物を完全に分解しているものと推測される。上記真菌共生菌群は、基本的には微好気性で、オリゴペプチド、アミノ酸、有機酸などの蛋白質分解産物を炭素源あるいはエネルギー源として成長するものであり、また、最終分解産物であるアンモニア、硫化水素などをそのまま、あるいはその酸化物をエネルギー生産のために使用するものである。ただし、この菌群は、他の有機物分解菌群の

中に混ぜられるものであるから、最終的には、上述した条件下で生存可能な菌群 を巻き込んで有機分解を行なうことになる。

#### [0018]

上記1, 2, 3及び6の菌は、粘液物質を体外に放出し、この中にアミラーゼ、プロテアーゼ、ヌクレアーゼ、リパーゼ及びセルラーゼをさらに放出し、物質分解を行なう。これと同時に、その分解産物を利用する上記4や5の菌群が集まる。さらには、最終産物を使う7や8の菌群が共生するものと思われる。粘液物質の多くは、蛋白質を基本としたもので、外からの栄養分がなくなると、中の菌群は粘液物質を分解して生き延びるものと思われる。

### [0019]

上述した有機物処理真菌共生菌群は、有機性廃棄物を分解・浄化する処理剤として、または有機性臭気源の無臭化剤として使用することができる。即ち、上述した1ppm以下の溶存酸素量で再曝気処理したときの上澄水をそのまま、または米ヌカや木屑、藁等のセルロース質に前記上澄水を加えて微好気状態(1ppm以下)で前記真菌共生菌群を培養し、この固形物を既知の方法で乾燥粉末化することで、有機性廃棄物の処理剤または無臭化剤とすることができる。

#### [0020]

前記有機性廃棄物の処理剤を、汚水、生ゴミ、生糞尿等の有機性廃棄物に添加し、酸素量を1ppm以下の環境とすることにより、廃棄物中の有機物が分解・ 浄化処理される。また、前記無臭化剤を、有機物が発する臭気源に添加すること により、臭いの発生が抑止される。このことは、従来のように、消臭菌が主動と なって硫化物、メタンガス、アンモニア等の臭い物質を分解するのではなく、前 記真菌共生菌群が優占菌として活動し、酸素又は無機質塩類を電子受容体として 呼吸するため、全体として臭い物質が発生しないものと考えられる。

#### [0021]

#### 【実施例】

以下、本発明の実施例について説明するが、本発明の権利範囲はこれらの実施例にのみ限定されるものではない。

#### $[0\ 0.2\ 2]$

# 「実施例1」

生活廃水を実験処理槽において、溶存酸素量1ppm以下で曝気処理し、その上澄水に含まれる菌群を採取し、それを攪拌懸濁の後、適当な濃度に薄めて好気的にLB培地で培養し分離同定した。真菌類はリボソーム18sDNAで、細菌群はリボソーム16sDNAで、粘液細菌は、その存在を顕微鏡で確認した。分離同定された菌とその特性を表1に示す。

[0023]

# 【表1】

菌 名	電子受容体	電子供与体	菌体外酵 素	備考
ムコール インディカス	酸素	糖,有機酸		
フラボバクテリウ ム ジョンソニア	酸素,硝酸	セルロース	ゼルラーゼ	脱窒素
I			<u> </u>	
シュウドモナス アルカリゲネス	酸素,硝酸	有機酸,ア ミノ酸		
クレブシエラ オ ルニチノリティカ		有機酸		窒素固定
バシラス リケニ フォルミス	酸素,硝酸	糖	プロテア ーゼ, セ ルラーゼ	脱窒素
			他	
ボセア チオオキシダンス	酸素	有機酸,ア ミノ酸		硫化物酸 化
メチロシーナス トリコスポリウム	1201. (1909.3	炭素化合物,水素		消臭, C <sub>1</sub> 化合物資 化
ミクソコッカス類	酸素	オリゴペプ チド	プロテア ーゼ, リ パーゼ他	/ \

[0024]

上述した真菌共生菌群と、電子受容体調整液を使用し、生活廃水、生ゴミ粉砕 台所廃水、豚糞尿廃水及び食品工場廃水をそれぞれ実験処理槽中に入れ、酸素量 を1ppm以下に調整して、曝気処理を行なった。それぞれの被処理水(上澄放 流水)の水質測定値を示す。

# [0025]

# 生活廃水処理

# 【表2】

	РН	BOD	СО	SS	Nーへキ	全窒素	全リ
			D				ン
廃水	7.1	17	14	22	0.5>	22.7	1.1
被処理水	6.4	5.7	3.3	6.2	0.5>	8.8	1.4

# [0026]

# 生ゴミ粉砕台所廃水処理

### 【表3】

	РН	BOD	SS	Nーへキ	全窒素	全リ
						ン
廃水	6.9	1886	1069	347	75	16
被 処 理水	7.6	105	116	6.2	22.6	9.3

# [0027]

### 豚糞尿廃水処理

# 【表4】

	РН	BOD	CO	SS	全窒素	全リ
			D			レ
廃水	6.8	5100	1600	2700	560	100
被処理水	8.1	70	430	76	150	25

# 残大腸菌1.3×10<sup>2</sup>

[0028]

食品工場廃水処理

【表5】

	РН	BOD	C O	SS	Nーへキ	全窒素	全リ
廃水	6.3	1100	360	230	11	10.6	3.9
被処理水	7.6	28	34	19	0.5>	8.07	0.84

# [0029]

以上のように、いずれの廃水浄化処理結果においても、被処理水に含まれる窒素成分やリン成分等が減少し、水質が大幅に向上している。また、臭気もなく、余剰汚泥も大幅に減少した。なお、コンポスト(生ゴミ、家畜糞尿など)に上記真菌共生菌群と電子受容体調整液を混合し、酸素量を1ppm以下にした状態で分解処理した場合も、無臭で高い処理能力結果が得られた。

### [0030]

次に、上記真菌共生菌群を含んだ電子受容体調整液を、様々な臭気源に加えて 消臭効果を調べた。その結果を下表に示す。

【表 6 】

臭気源	臭 気	消臭効果	備考
生活廃水浄化槽	下水臭	+++	混入
豚糞尿	強アンモニア臭	++	噴霧
鶏糞	鶏糞臭	++	噴霧
牛糞尿	発酵有機酸臭	++	噴霧
生ゴミ	酸性臭	++	噴霧
畜臭・ペット舎	アンモニア臭	+++	噴霧

## [0031]

上表から明らかなように、いずれの臭気源に対しても優れた消臭効果が得られ、上記真菌共生菌群の有効性が確認された。なお、上表において消臭効果は+の数が多いほど効果が高い。

# [0032]

#### 【発明の効果】

以上説明したように、本発明の真菌共生菌群は、有機性廃棄物を無臭気状態で分解・浄化処理することができ、有機性廃棄物処理剤または無臭気剤として有効に利用できる。また、本発明の真菌共生菌群は、最初に電子受容体調整液を加えると、その後は自ら電子受容体を生産し、有機物分解が自然に進み、菌群も増殖するため、さらに菌群を加える必要もなく、管理が容易である、等の効果がある

【書類名】

要約書

【要約】

【課題】 有機性廃棄物の分解・浄化処理と、臭気源の無臭化のため の真菌共生菌群を提供する。

【解決手段】 酸素量を実質的に1 p p m以下とし、電子受容体となる無 機塩類と、炭素源の存在下で共生増殖する菌の集合体であり、以下の菌を優占菌 として含んでいる。ムコール インディカス、ミクソコッカス類、フラボバクテ リウム ジョンソニアエ,シュウドモナス アルカリゲネス.クレブシエラ オ ルニチノリティカ, バシラス リケニフォルミス, ボセア チオオキシダンス. メチロシーナス トリコスポリウム。

【選択図】 なし

# 認定・付加情報

特許出願の番号 特願2003-044321

受付番号 50300282576

書類名 特許願

担当官 田丸 三喜男 9079

作成日 平成15年 2月27日

<認定情報・付加情報>

【提出日】 平成15年 2月21日

【特許出願人】

【識別番号】 501232643

【住所又は居所】 東京都新宿区百人町2丁目11番24号

【氏名又は名称】 ホーマークリーン株式会社

【特許出願人】

【識別番号】 500503481

【住所又は居所】 静岡県三島市大場1086-152

【氏名又は名称】 定家 多美子

【特許出願人】

【識別番号】 501232665

【住所又は居所】 山梨県南巨摩郡身延町梅平1343-1

【氏名又は名称】 若尾 喜一

【代理人】 申請人

【識別番号】 100078259

【住所又は居所】 東京都港区西新橋1-17-8 須田ビル3階

西野特許事務所

【氏名又は名称】 西野 茂美

【書類名】

手続補正書

【整理番号】

HC0316

【あて先】

特許庁長官殿

【事件の表示】

【出願番号】

特願2003-44321

【補正をする者】

【識別番号】

501232643

【氏名又は名称】 ホーマークリーン株式会社

【代表者】

山岡 一夫

【補正をする者】

【識別番号】

500503481

【氏名又は名称】

定家 多美子

【補正をする者】

【識別番号】

501232665

【氏名又は名称】

若尾 喜一

【代理人】

【識別番号】

100078259

【弁理士】

【氏名又は名称】

西野 茂美

【手続補正 1】

【補正対象書類名】

明細書

【補正対象項目名】

0 0 2 2

【補正方法】

変更

【補正の内容】

1

【プルーフの要否】

要

[0022]

生活廃水を実験処理槽において、溶存酸素量1ppm以下で曝気処理し、その上澄水に含まれる菌群を採取し、それを攪拌懸濁の後、適当な濃度に薄めて好気的にLB培地で培養し分離同定した。真菌類はリボソーム18<u>SRNA遺伝子</u>で、細菌群はリボソーム16<u>SRNA遺伝子</u>で、粘液細菌は、その存在を顕微鏡で確認した。分離同定された菌とその特性を表1に示す。

# 認定・付加情報

特許出願の番号

特願2003-044321

受付番号

5 0 3 0 0 2 8 9 6 2 6

書類名

手続補正書

担当官

田丸 三喜男 9079

作成日

平成15年 2月27日

<認定情報・付加情報>

【提出日】

平成15年 2月24日

# 特願2003-044321

# 出願人履歴情報

### 識別番号

[501232643]

1. 変更年月日

2001年 6月11日

[変更理由]

新規登録

住 所 氏 名 東京都新宿区西新宿6丁目12番7号 ストーク新宿310号

ホーマークリーン株式会社

2. 変更年月日

2002年12月24日

[変更理由]

住所変更

住 所

東京都新宿区百人町2丁目11番24号

氏 名

ホーマークリーン株式会社

# 特願2003-044321

# 出願人履歴情報

# 識別番号

[500503481]

1. 変更年月日 [変更理由]

住所氏名

2000年10月30日

新規登録

静岡県三島市大場1086-152

定家 多美子

# 特願2003-044321

# 出願人履歴情報

識別番号

[501232665]

1. 変更年月日 [変更理由]

2001年 6月11日

新規登録

住 所

山梨県南巨摩郡身延町梅平1343-1

氏 名 若尾 喜一